

반응표면분석에 의한 감식초 제조조건 최적화

정용진 · 이기동 · 김광수*

경북과학대학 전통발효식품과, *영남대학교 식품영양학과

Optimization for the Fermentation Condition of Persimmon Vinegar using Response Surface Methodology

Yong-Jin Jeong, Gee-Dong Lee and Kwang-Soo Kim*

Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science

*Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

Abstract

To utilize astringent persimmon (*Diospyros kaki*, T.) effectively, response surface methodology (RSM) was applied to optimize and monitor the vinegar fermentation conditions by two stage fermentation. In the first stage, the fermentation conditions for maximum alcohol content was 20.51 °brix in sugar concentration of astringent persimmon, 139.52 rpm in agitation rate, and 94.88 hr in fermentation time. When sugar concentration of astringent persimmon was 14 °brix, maximum alcohol content predicted by response surface methodology was 7.1% at agitation rate of 40 rpm and fermentation time of 120 hr. In the second stage, the fermentation conditions for maximum acidity was 224.40 rpm in agitation rate, 176.07 hr in fermentation time. Alcohol content and acidity predicted at the optimum conditions were similar to experimental values.

Key word: astringent persimmon vinegar, alcohol fermentation, vinegar fermentation, RSM

서 론

옛부터 우리 민족은 다양한 종류의 식초를 가정에서 제조하여 조미료로 뿐만 아니라 건강식품 등으로 다양하게 이용하여 왔다. 최근 경제성장과 더불어 식생활 문화가 향상되면서 조미용, 음료용 및 식초 함유 음료까지 개발되면서 식초는 다양하게 이용되고 있다^(1,2). 식초는 TCA 회로에 관여하여 젖산의 분해를 가속화시켜 과격한 운동 후 피로회복에 좋고 동맥경화 및 고혈압의 예방, 식품의 방사능 제거효과, 혈중알콜 저하효과, 식품의 방부기능 등이 다양하게 보고되었다⁽³⁾. 특히 식생활이 서구화되면서 식초의 소비는 꾸준히 증가되었지만 국내의 식초 소비량은 산도 5% 기준으로 1인당 연간 0.38 L정도로 서구 국가의 2 L정도 수준에는 미치지 못하고 있는 실정으로 다양한 용도의 식초개발이 요구되고 있다⁽⁴⁾.

국내에서 생산되는 감은 대부분이 짧은감으로 탈산 또는 연화 과정을 거쳐야 할 뿐만 아니라 기호적으로

단감에 비하여 선호도가 낮고 수확시기에 일시적으로 출하되어 일부는 수확도 되지 않은 상태로 버려지는 등 많은 경제적 손실이 초래되고 있다^(5,6). 식초 제조공정은 전분질, 과실 등의 원료를 알콜발효 및 초산발효의 2단계 발효과정으로 1단계 알콜발효에서 1 g의 glucose는 0.51 g의 에탄올로 전환되며 2단계 초산발효에서는 에탄올이 초산으로 산화되어 0.67 g의 초산을 생성할 수 있는 비교적 단순반응이다⁽¹⁰⁾.

그러나 전통적인 병행발효방법으로 상품화되어 시판되는 감식초는 6~7개월 이상의 장기간 발효과정으로 일반적인 식초류에 비하여 산도가 매우 낮고(2.6~3.5%), 수율 또한 50% 정도 밖에 되지 않아 경제성이 없을 뿐만 아니라 초산 이외에 젖산이 많이 함유되어 이취의 원인으로 알려진 acetone계 화합물의 생성으로 품질이 떨어진다^(8,9,11-13). 따라서 고품질의 감식초를 대량생산하기 위하여 전통적인 감식초 제조방법에 대한 개선이 절실히 요구되고 있다.

본 연구에서는 전통적인 병행발효과정의 감식초 제조공정을 알콜발효와 초산발효 2단계로 분리하여 반응표면분석법으로 발효조건을 최적화하여 품질이 우수한 감식초 제조방법을 확립하고자 하였다.

Corresponding author: Yong-Jin Jeong, Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Chilkok, Kyongbuk 718-850, Korea

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 감은 1996년 11월 경북 청도군 일대에서 생산된 완숙된 뽕은감(*Diospyros kaki*, T.)을 사용하였다.

주모 및 증초

Jeong 등^(11,14)의 방법에 따라 5% (w/v)의 주모를 접종하고 알콜발효를 행하였으며, 초산발효는 여과 후 여액에 5% (v/v)의 증초를 이용하여 행하였다.

실험계획

뽕은감식초 제조조건을 Jeong 등⁽¹¹⁾의 방법에 따라 300 g의 시료를 알콜발효와 초산발효 2단계로 나누어 중심합성실험계획^(15,16)에 따라 실험을 실시하였으며 반응표면분석을 위해서 SAS (statistical analysis system) program을 이용하였다⁽¹⁷⁾. 1단계로 알콜발효 조건은 초기당도(X_1), 교반속도(X_2) 및 발효시간(X_3)이었으며, 3개의 알콜발효조건이 5수준(-2, -1, 0, 1, 2)으로 부호화하여 중심합성계획을 수립하고 16개의 설정된 조건으로 실험을 행하였고 알콜발효의 품질특성에 관련된 반응변수(Y_n)로는 알콜함량(Y_1) 및 총산(Y_2)으로 하였다.

2단계로 초산발효조건은 교반속도(X_1), 발효시간(X_2)으로 설정하였으며, 이들 초산발효조건은 -2, -1, 0, 1, 2로 5수준으로 부호화하여 10개의 설정된 조건으로

실험을 실시하였다. 이때 초기산도 및 배양온도는 초산균의 특성을 고려하여 미리 배양된 밀초로 초기산도를 1.0으로 조절하여 30°C shaking incubator에서 설정된 각각의 조건으로 발효시킨 후 원심분리하여 상정액을 분석시료로 사용하였다⁽¹¹⁾.

총산

총산은 0.1 N NaOH 용액으로 중화적정하여 초산으로 환산하였다.

알콜함량 측정

알콜함량 측정은 배양액을 원심분리한 후 상등액을 증류하여 alcohol hydrometer로 측정 한 값을 Gay Lussac Table로 환산하여 계산하였다⁽¹¹⁾.

결과 및 고찰

알콜발효

뽕은감의 이용성 증진과 품질이 우수한 감식초 제조를 위하여 1단계로 중심합성 실험계획에 따라 발효 조건에 따른 알콜함량과 총산을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 중심합성계획에 의해 설계된 실험조건에서 알콜발효 과정의 알콜함량에 대한 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. 알콜발효에 있어서 세 가지 요인변수인 원료감의 초기당도(9~21 °Brix), 교반속도(0~200 rpm) 및 발효시간(48~144 hr)에 따른 알콜함량에 대한 반응표면회귀식은 다음과 같으며,

Table 1. Experimental data for alcohol content and acidity under different conditions of sugar concentration, agitation rate and fermentation time for astringent persimmon wine

Exp No.	Fermentation conditions			Physicochemical properties	
	Sugar conc. (°brix)	Agitation rate (rpm)	Fermentation time (hr)	Alcohol content (%)	Acidity
1	12 (-1)	50 (-1)	72 (-1)	5.8	0.42
2	12 (-1)	50 (-1)	120 (1)	6.5	0.47
3	12 (-1)	150 (1)	72 (-1)	5.5	0.42
4	12 (-1)	150 (1)	120 (1)	5.5	0.55
5	18 (1)	50 (-1)	72 (-1)	7.4	0.50
6	18 (1)	50 (-1)	120 (1)	7.9	0.58
7	18 (1)	150 (1)	72 (-1)	7.7	1.14
8	18 (1)	150 (1)	120 (1)	8.0	1.19
9	15 (0)	100 (0)	96 (0)	7.0	1.15
10	15 (0)	100 (0)	96 (0)	7.0	1.20
11	21 (2)	100 (0)	96 (0)	9.4	1.35
12	9 (-2)	100 (0)	96 (0)	3.2	0.94
13	15 (0)	200 (2)	96 (0)	6.9	0.60
14	15 (0)	0 (-2)	96 (0)	7.4	0.59
15	15 (0)	100 (0)	144 (2)	6.7	1.05
16	15 (0)	100 (0)	48 (-2)	7.1	1.04

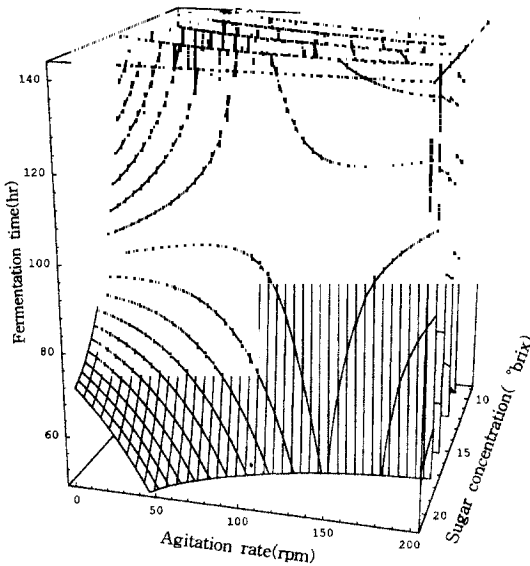


Fig. 1. Response surface for alcohol content in alcohol fermentation using astringent persimmon fruits at constant values (alcohol content : 5.0-6.0-7.0-8.0%) as a function of sugar concentration of persimmon fruits, agitation rate and fermentation time.

$$Y_1 = -2.393750 + 0.843750X_1 - 0.017625X_2 + 0.016927X_3 - 0.019444X_1^2 + 0.001417X_1X_2 + 0.00001500X_2^2 + 0.000174X_1X_3 - 0.000093750X_2X_3 - 0.000043403X_3^2$$

R²는 0.9386으로 유의성이 0.0053으로 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 알콜함량에 대한 발효조건에의 영향은 원료감 당도의 영향을 주로 받고 있었으며, 교반속도와 발효시간은 크게 영향을 미치지 않았다. 발효과정에서 알콜함량의 변화는 원료감의 당도가 높아짐에 따라 비례하여 증가하였다. 이와 같은 결과는 Jeong 등⁽¹¹⁾이 단감의 알콜발효에서 원료감의 당도, 교반속도 및 발효시간이 증가할수록 알콜함량이 증가한다는 보고와는 다소 다른 경향이였다.

알콜발효 중 산패의 기준이 되는 총산 변화에 대한 반응표면은 Fig. 2에 나타내었으며, 발효조건에 따른 총산 변화에 대한 반응표면회귀식은 다음과 같다.

$$Y_2 = 0.117500 - 0.014792X_1 - 0.001837X_2 + 0.012474X_3 - 0.000833X_1^2 + 0.000975X_1X_2 - 0.00005800X_2^2 - 0.000086806X_1X_3 + 0.000005208X_2X_3 - 0.000056424X_3^2$$

총산에 대한 R²는 0.6473으로 유의성이 인정되지 않았다. 알콜발효 중 총산의 변화는 교반속도와 원료감 당도의 영향을 주로 받고 있었으며, 발효시간의 영향

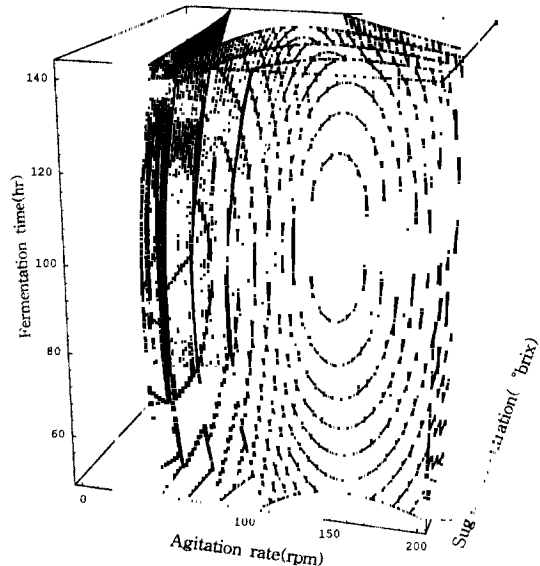


Fig. 2. Response surface for acidity in alcohol fermentation using astringent persimmon fruits at constant values (acidity : 0.6-0.8-1.0-1.2) as a function of sugar concentration of persimmon fruits, agitation rate and fermentation time.

은 거의 없었다. 총산은 교반속도가 50 rpm 이하에서는 거의 변화가 없었으나 교반속도 50 rpm 이상에서는 교반속도가 증가하고 원료감의 당도가 높을수록 증가하는 경향이였다. 알콜함량이 가장 높은 조건에서 총산도 가장 높게 나타났으며, 이와같은 경향은 단감을 이용한 감식초 발효⁽¹¹⁾에서와는 상이한 것이였다.

뽕은감을 이용하여 알콜함량 및 총산변화에 준하여 각각의 최적조건을 구하고자 능선분석을 행하여 본 결과, Table 2와 같이 알콜함량에 대한 최대치는 원료감의 당도 20.51°Brix, 교반속도 139.52 rpm 및 발효시간 94.88 hr로 나타났으며, 총산에 대한 최소치는 원료감의 당도 16.19°Brix, 교반속도 2.00 rpm 및 발효시간 95.53 hr로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 알콜함량이 높고 산패의 위험이 적은 조건 즉, 원료감의 당도 20°Brix 이상, 교반속도 50 rpm 이하 및 발효시간 80 hr 이상이 가장 적당한 알콜발효조건으로 설정되었다. 그러나 일반적인 감과실의 당도가 14°Brix 정도임을 감안하여 제한조건으로 원료감의 당도를 14°Brix로 설정한 후 알콜함량 및 총산을 모니터링하여 본 결과는 Fig. 3, 4에 나타내었다. 제한조건에서 알콜함량은 발효시간의 영향은 거의 받지 않았고 주로 교반속도에 의해 크게 영향을 받았으며, 낮은 교반속도에서 알콜함량이 높았다. 그러나 원료감의 당도를 14°Brix로 제한한 후 알콜발

Table 2. Predicted levels for physicochemical properties of astringent persimmon wine yielding optimum responses by analysis of ridge

Fermentation conditions	Alcohol content		Acidity	
	maximum	minimum	maximum	minimum
Sugar conc. (°Brix)	20.51	9.17	20.46	16.19
Agitation rate (rpm)	139.52	123.81	141.47	2.00
Fermentation time (hr)	94.88	96.81	97.75	95.53
Predicted value	8.93	3.63	1.44	0.23
Morphology	S.P. ¹⁾		S.P.	

¹⁾S.P.: saddle point

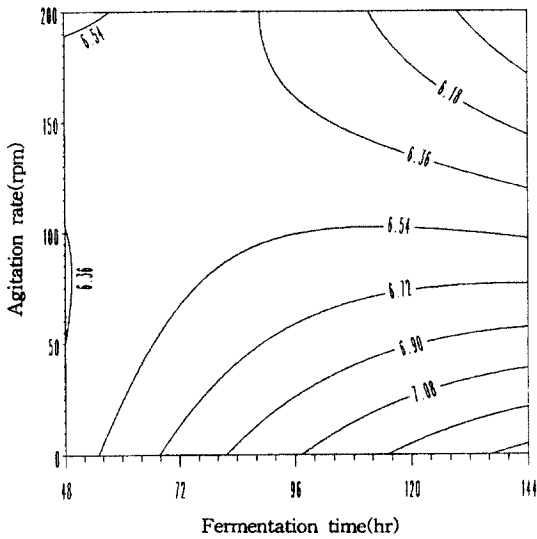


Fig. 3. Contour map for alcohol content in alcohol fermentation using 14°Brix astringent persimmon fruits at constant values (alcohol content: 6.18-6.36-6.54-6.72-6.90-7.08%) as a function of agitation rate and fermentation time.

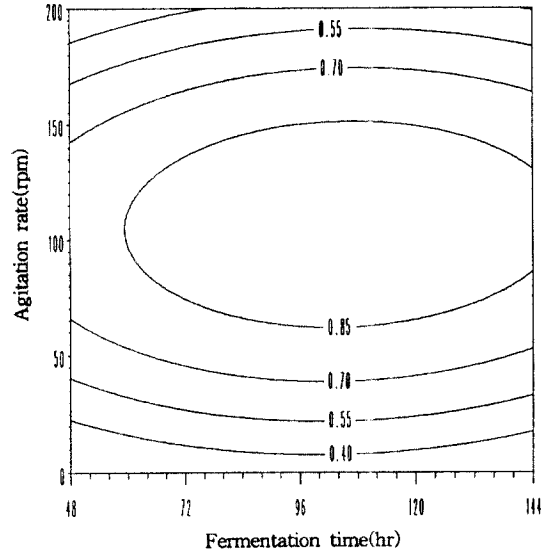


Fig. 4. Contour map for acidity in alcohol fermentation using 14°Brix astringent persimmon fruits at constant values (acidity: 0.40-0.55-0.70-0.85) as a function of agitation rate and fermentation time.

효에서는 총산의 변화는 교반속도의 영향을 주로 받았으며, 100 rpm까지는 교반속도가 높을수록 증가하였으나 그 이상에서는 교반속도가 높을수록 감소하였다. 따라서 알콜발효 수율이 높고 총산이 낮은 최적 알콜발효조건을 설정하고자 제한조건(원료감의 당도 14°Brix)에서 형성된 알콜함량 및 총산에 대한 등고선도를 겹쳐서 최적조건을 설정하였을 때 빗금친 부분과 같이 교반속도가 50 rpm 이하, 발효시간이 90 hr 이상으로 나타났다(Fig. 5). 이와 같은 예측결과에 대한 모델식의 신뢰성을 확인하기 위하여 예측된 최적 조건 범위내의 임의의 조건(발효시간 120 hr 및 교반속도 40 rpm)으로 알콜발효를 수행하여 알콜함량과 총산을 측정하여 본 결과 예측된 알콜함량(7.14%) 및 총산(0.62)은 최적조건에서 실제 발효를 행한 결과(알콜함량 7.10%, 총산 0.60)와 유사하였다.

초산발효

알콜발효에서 뚝은감의 당도 14°Brix를 제한조건으로 설정한 후 설정된 최적발효조건(발효시간 120 hr 및 교반속도 40 rpm)으로 1단계 알콜을 발효시킨 후 착즙된 여액을 초기산도 1로 조절하여 중심합성계획에 의해 설정된 조건으로 초산발효를 행하였다. 중심합성 실험계획에 의하여 두 가지 요인변수인 교반속도(50~250 rpm) 및 발효시간(96~192 hr)에 따른 여러 조건에서 얻은 감식초의 총산을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 식초의 총산에 대한 반응표면회귀식은 다음과 같다.

$$Y_1 = 0.770089 - 0.020268X_1 - 0.014033X_2 + 0.000023893X_1^2 + 0.000275X_1X_2 + 0.00007115X_2^2$$

총산에 대한 R²는 0.9747로 높게 나타났으며, 유의

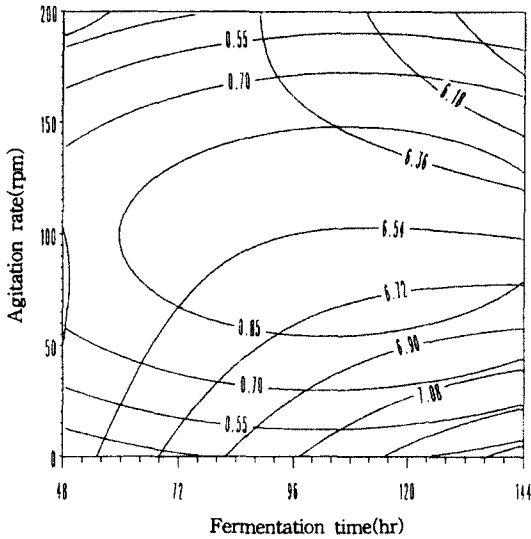


Fig. 5. Superimposed contour map for optimization of alcohol content and acidity in alcohol fermentation using 14°brix astringent persimmon fruits.

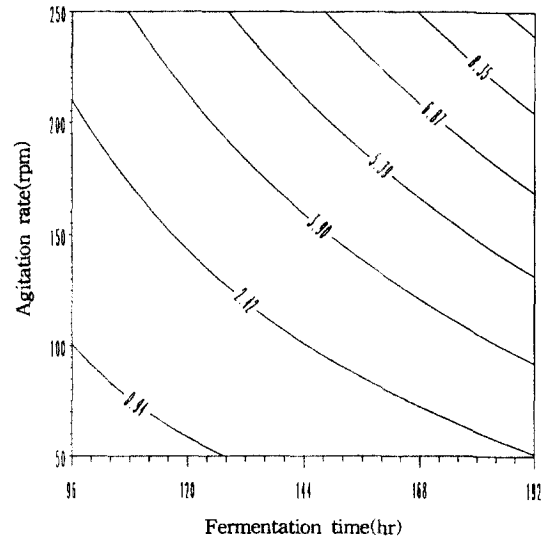


Fig. 6. Contour map for acidity in vinegar fermentation using astringent persimmon fruits by optimum alcohol fermentation condition (14°brix, 50 rpm and 130 hrs) at constant values (acidity: 0.94-2.42-3.90-5.39-6.87-8.35) as a function of agitation rate and fermentation time.

Table 3. Experimental data for acidity under different conditions of agitation rate and fermentation time for astringent persimmon vinegar

Exp No.	Fermentation conditions		Physicochemical properties
	Agitation rate (rpm)	Fermentation time (hr)	Acidity
1	200 (1)	120 (-1)	4.02
2	200 (1)	168 (1)	6.60
3	100 (-1)	120 (-1)	1.71
4	100 (-1)	168 (1)	2.97
5	150 (0)	144 (0)	3.06
6	150 (0)	144 (0)	4.14
7	250 (2)	144 (0)	6.36
8	50 (-2)	144 (0)	1.38
9	150 (0)	192 (2)	6.27
10	150 (0)	96 (-2)	1.32

성은 0.0027로 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 총산에 대한 초산발효조건에의 영향은 Fig. 6에서와 같이 교반속도와 발효시간 모두 초산발효에 크게 영향을 미쳤으며, 교반속도와 발효시간이 증가할수록 비례하여 증가하였다. 이러한 경향은 Jeong 등⁽¹¹⁾이 단감의 초산발효시 발효 150시간에서 산도가 가장 높게 나타났다는 보고와는 다소 차이가 있었다. 초산발효의 최적조건범위는 교반속도 200 rpm 및 발효시간 170 hr 이상에서 발효하였을 때에 총산이 가장 높게 나타났다. 능선분석에 의한 최적조건은 224.40 rpm, 176.07 hr로써 예측된 총산이 8.03이었으며, 최적조건

에서 예측된 총산은 최적조건으로 실제 발효를 행한 결과(총산 7.98)와 유사하게 나타났다. 이와 같이 반응 표면분석으로 뽕은감식초 제조조건을 알콜발효와 초산발효 2단계로 구분하여 발효조건을 최적화하고 발효조건에 따른 주요 성분의 변화를 모니터링할 수 있었다.

요 약

뽕은감의 이용성 증진과 품질이 우수한 감식초 발효조건을 최적화하였다. 품질이 일정하고 단기간에 대량생산이 가능한 발효조건을 확립하기 위하여 반응 표면분석으로 식초 제조조건을 알콜발효와 초산발효 2단계로 구분하여 모니터링하였다. 그 결과 1단계 알콜발효에서 알콜함량이 최대치를 나타내는 조건은 원료감의 당도 20.51°Brix, 교반속도 139.52 rpm, 발효시간 94.88 hr으로 나타났다. 그러나 뽕은감의 당도가 14°Brix 정도임을 감안하여 제한조건으로 초기당도를 14°Brix로 정한 후 최적조건을 예측하여 본 결과 발효시간 120 hr, 교반속도 40 rpm에서 알콜수율이 7.1%로 나타났다. 이와 같이 설정된 조건으로 알콜발효를 행한 후 2단계로 초산발효를 행하여 초산발효조건을 예측한 결과 총산이 최대치를 나타내는 조건은 교반속도 224.40 rpm, 발효시간 176.07 hr로 나타났다. 최

적조건에서 예측된 알콜발효 및 초산발효의 결과는 최적조건으로 실제 발효를 행한 결과와 유사하였다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 한국과학재단 산학협력연구과제 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문헌

1. Moon, S.Y., Chung, H.C, and Yoon, H.N.: Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes (in Korean). *J. Food Sci. Technol.*, **29**, 663-670 (1997)
2. 최신양, 구영조, 이명기 : 감식초음료 개발에 관한연구. 한국식품개발연구원 보고서(1995)
3. Nakanc, S.: Food useful for preventing alcohol intoxication-containing persimmon-vinegar and optimum fruits, with blood alcohol concentration reducing action, *Japan. patent*, **63**, 562-566 (1988)
4. 문태익 : 식초공업의 현황 및 전망. *식품과학*, **17**, 28-37 (1984)
5. Sohn, T.H and Seong, J.H.: Studies on the mechanism of nonastrin production of tannin in persimmon (in Korean). *J. Food Sci. Technol.*, **13**, 261-266 (1981)
6. 원예연구소 보고서 : 감 선도유지저장 및 가공이용 확대 방안 연구. 농촌진흥청, 제3차년도 완결보고서 (1994)
7. Kim, M.K., Kim, M.J., Kim, S.Y, Jung, D.S, Jung, Y.J. and Kim, S.D.: Quality of persimmon vinegar fermented by complex fermentation method (in Korean). *J. East Asian Dietary Life*, **4**, 39-44 (1994)
8. Hong, J.H., Lee, G.M. and Hur, S.H.: Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmons during low temperature storage (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 123-1128 (1996)
9. Jeong, Y.J., Shin, S.R., Kang, M.J., Seo, C.H., Won, C. Y. and Kim, K.S.: Preparation and quality evaluation of the quick fermented persimmon vinegar using deteriorated sweet persimmon (in Korean). *J. East Asian Dietary Life*, **6**, 221-227 (1996)
10. Darimsch, H., and Dieter, V.: Measurment, control, and modeling of submerged acetic acid fermentation, *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 26-31 (1992)
11. Jeong, Y.J., Seo, K.I., Lee, G.D., Youn, K.S., Kang, M. J. and Kim, K.S.: Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using response surface methodology (in Korean). *J. East Asian Dietary Life*, **8**, 57-65 (1998)
12. Nakabayashi, T.: Studies on tannins of fruits and vegetables, Part IV. Deproteinizing activity of tannins. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **15**, 502-507 (1968)
13. Minoru, N., Hideyuki N., Kaoru M., Ichiji Y. and Shohei A.: Changes in the composition of persimmon vinegar induced by *Acetobacter sp.* isolated from 'Sanja' persimmon fruits during the fermentation. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **34**, 818-823 (1987)
14. Jeong, Y.J., Seo, K.I., Shin, S.R, Seo, C.H., Kang, M.J. and Kim, K.S.: Yeast isolate for alcohol fermentation of persimmon fruits (in Korean). *J. East Asian Dietary Life*, **7**, 538-544 (1997)
15. Lee, G.D., Kim, J.S. and Kwon, J.H.: Monitoring of cynamic changes in Maillard reaction substrates by response surface methodology (in Korean). *J. Food Sci. Technol.*, **28**, 212-219 (1996)
16. Floros, J.D. and Chinnan, M.S.: Optimization of pimento pepper lyepeeling process using response surface methodology, *Trans. of ASAE*, **30**, 560-566 (1987)
17. SAS : SAS/STAT : User's Guide Version 6, 4th ed., vol. 2, SAS Institute Inc., p.1457 (1990)

(1998년 3월 27일 접수)